Über das Bilirubin.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer hohen philosophischen Fakultät (II. Sektion)

der Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dr. med. S. J. Thannhauser

aus München.

MÜNCHEN

Druck von Val. Höfling, Lämmerstraße Nr. 1.

1913.

Meinen Eltern in Dankbarkeit!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548312_0123

Vorliegende Arbeit wurde im chemischen Laboratorium der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. Oskar Piloty, auf dessen Veranlassung und unter dessen liebenswürdiger Leitung diese Arbeit entstand, sowie Seiner Exzellenz Herrn Geheimrat Prof. Dr. Adolf Ritter von Baeyer für das meinen Studien entgegengebrachte Interesse meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Inhaltsangabe.

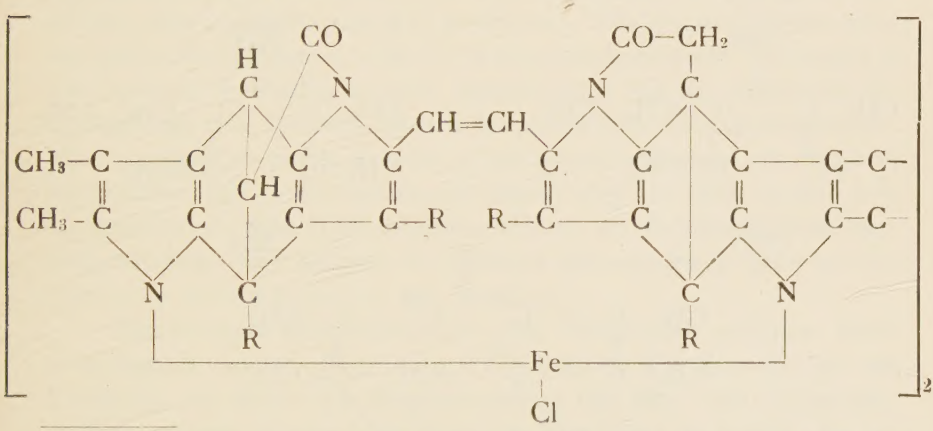
Seite

Einleitung 9
Theoretischer Teil 13
Experimenteller Teil
Darstellung des Bilirubins 20
Kalischmelze des Bilirubins 22
1. Dimethylpyrrol 25
2. Trimethylpyrrol 27
Reduktion des Bilirubins mit Jodwasserstoffsäure 27
1. Bilinsäure 27
2. Dehydrobilinsäure 31
3. Isophonopyrrolcarbonsäure 33
Schlufswort 36

Einleitung.

Der Blutfarbstoff ist in den letzten Jahren der Gegenstand eingehender Untersuchung geworden. Die Arbeiten von Nencki und Zaleski,[1]) Marchlewski,[2]) Küster,[3]) Piloty,[4]) Willstätter[5]) und Hans Fischer[6]) haben unsere Kenntnisse über die einzelnen Bausteine des Häminmoleküls soweit gefördert, dafs wir über die Konstitution vieler Bruchstücke gut unterrichtet sind.

Für den strukturellen Aufbau des Häminmoleküls hat Piloty ein Formelbild gegeben und dieses als Arbeitshypothese bezeichnet, welches mit Berücksichtigung der neueren Modifikationen[7]) folgendermafsen aufgebaut ist:



1) Ber. d. Chem. Ges. 34, 997, 1901, Zeitschr. f. Physiol. Chem. 37, S. 57.

2) In einer grofsen Reihe von Arbeiten.

3) Ber. d. Chem. Ges. 35, 2953; Ber. d. Chem. Ges. 37, 2472; 40, 2017; 45, 2503. — Annalen 346. — Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 526 (1908); 61, 164 (1909).

4) Annalen 366, 237 (1909); Annalen 377, 314 (1910); 392, 215 (1912). — Ber. d. Chem. Ges. 42, 4702 (1909); 45, 2495; 45, 2592; 45, 2595 (1912).

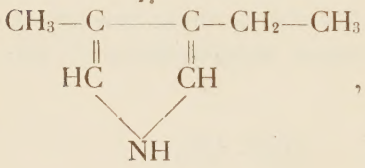
5) Annalen 385, 199 (1911).

6) Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 228 (1911). Ber. 44, 3313 (1911); 45, 466; 45, 1979.

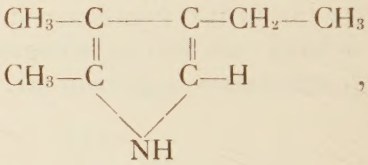
7) Annalen 377, 1910; 388, 313.

Die wesentlichen, in diesem Formelbild zum Ausdruck gebrachten Gedanken über die Verknüpfung der Pyrrolkerne sind der anthracenartige Aufbau, die Laktamringe und die Möglichkeit von Brückenkohlenstoffatomen in den sechs Ringen. Die in letzter Zeit gemachten neuen Entdeckungen auf dem Gebiete des Blutfarbstoffes widersprechen diesem schon vor längerer Zeit aufgestellten Formelbilde nicht. Auch nicht der Nachweis Piloty's, dafs die Molekulargröfse des Hämatoporphyrins doppelt so hoch gefunden wurde als man bis dahin annahm. Die neuesten Untersuchungen Piloty's ergaben für das Hämatoporphyrin das Molekulargewicht von 1200 und eine Untersuchung von Piloty und Fink macht es sehr wahrscheinlich, dafs auch für das Hämin eine Verdoppelung des Molekulargewichts anzunehmen sei. Die bisher aufgefundenen Spaltstücke des Hämins sind teils homologe Pyrrole, teils Carbonsäuren derselben.

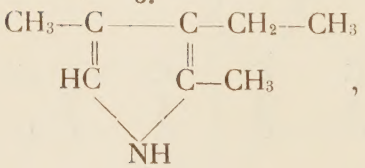
1.



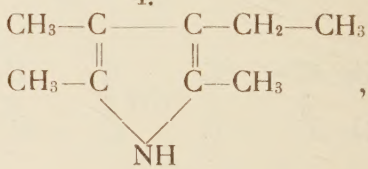
2.



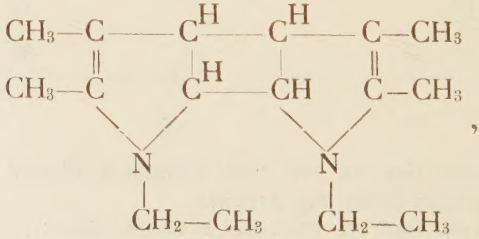
3.



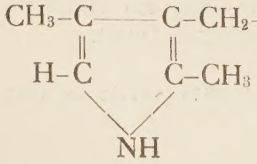
4.



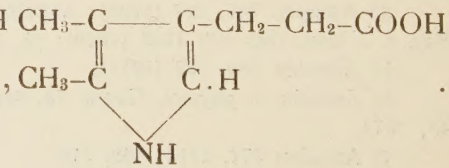
5.



6.



7.



Der Menge nach sind 2, 3, 6, 7 die hauptsächlichsten Spaltstücke des Blutfarbstoffes beim reduktiven Abbau im Laboratorium. Wenden wir uns nun dem physiologischen Geschehen beim Auf- und Abbau des Blutfarbstoffes im Organismus zu, so sehen wir, dafs man sowohl über den Ort des Aufbaues des Blutfarbstoffes als auch über das dazu verwendete Material noch ganz im Unklaren ist. Der Spekulation ist hier Raum gegeben. Erst einer exakten biologischen Methodik wird es vorbehalten sein, hier aufklärend zu wirken. Hinsichtlich des physiologischen Abbaues der gefärbten Komponente des Hämoglobins ist man besser unterrichtet. Wir wissen dank der Untersuchungen von Nannyn, Minkowski und Stadelmann, dafs der Abbau des Blutfarbstoffes in der Leber sich vollzieht und dafs der Farbstoff der Galle das Produkt des physiologischen Abbaues ist. Es sind in der Literatur eine Reihe von Gallenfarbstoffen beschrieben; das Bilirubin $C_{32}H_{36}N_4O_6$, das Biliverdin $C_{32}H_{36}N_4O_8$, das Cholecyanin und Choletelin $C_{32}H_{36}N_4O_{12}$?, das Bilipurpurin $C_{32}H_{34}N_4O_5$, das Bilifuscin und Biliprasin. Es scheint sich hier aber um sekundäre Oxydationsprodukte des Bilirubins zu handeln, so dafs man gut daran tut, das Bilirubin, da es das primäre Abbauprodukt des Blutfarbstoffes ist, als „den" Gallenfarbstoff zu bezeichnen. Die ersten Arbeiten über das Bilirubin stammen von Maly[8]) und gleichzeitig von Städeler.[9]) Die Autoren beschäftigten sich hauptsächlich mit der Methodik der Darstellung und der Analyse des Bilirubins aus Rindergallensteinen. Maly gelang es durch Reduktion mit Natriumamalgam ein Produkt zu erhalten, das er Hydrobilirubin nannte und als identisch mit dem Urobilin ansah. Das Hydrobilirubin Malys ist ein braunrotgefärbter, nicht kristallisierter Körper. Zu weiterer Untersuchung fehlte sowohl Maly als auch Städeler das Material.

Gleichzeitige Untersuchungen von Thudichum zeitigten keine wesentlichen neuen Ergebnisse.[10]) William Küster[11]) hat das Verdienst, als erster den Zusammenhang des Blut- und Gallenfarbstoffes auf rein chemischem Wege nachgewiesen zu haben. Es gelang ihm sowohl durch Oxydation des Hämatoporphyrins wie auch

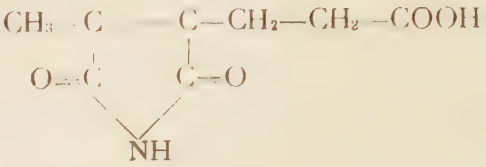
8) Wien. akad. Ber. Bd. 57, S. 95, Bd. 59, S. 597. — Annalen 132, S. 127; 163, S. 77; 175, S. 76; 181, S. 106.

9) Annalen 132, S. 323 (1864).

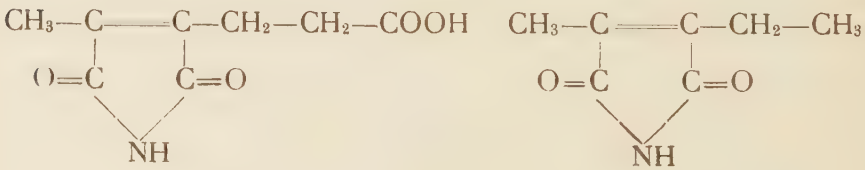
10) Annalen 173, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 104.

11) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 26, S. 314 (1898), Bd. 47, S. 294 (1906); 59, S. 63 (1909). — Ber. Bd. 30, S. 1831, Bd. 32, S. 681 (1899), Bd. 35, S. 1268 (1912).

durch Anwendung des gleichen Verfahrens auf das Bilirubin aus beiden Farbstoffen Hämatinsäure



zu isolieren. Aus den in beiden Fällen erhaltenen Ausbeuten lassen sich keine Schlüsse ziehen. In seinen Arbeiten beschäftigte sich Küster hauptsächlich mit der definitiven Aufstellung einer Bruttoformel für Bilirubin und der Methode der Darstellung aus tierischen Gallensteinen. Orndorff und Teeple[12]) glauben bei der Zinkstaubdestillation von Bilirubin Hämopyrol gefunden zu haben; jedoch stützen sich ihre Angaben auf keine Analysen. Hans Fischer[13]) gelang es durch Reduktion des Bilirubins mit Natriumamalgam ein farbloses, kristallisiertes Produkt in einer Ausbeute von 52% zu erhalten, daneben gewann er einen gefärbten, amorphen Körper in 41% Ausbeute. Er nannte den kristallisierten Körper „Hemibilirubin". Das Molekulargewicht dieses Körpers gibt Fischer zu 580 an, seine Bruttoformel $C_{33}(C_{32})H_{44}N_2O_6$. Bei der Oxydation gibt dieser Körper Hämatinsäure und Methyläthylmaleinimid.



Methyläthylmaleinimid wurde bei der gleichartigen Oxydation des Bilirubins weder von Küster noch von Fischer erhalten.

12) Americ. chem. Journ. 26, S. 86 (1901); 33, 215 (1905).
13) Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 204 (1911) und 75, 339 (1911).

Theoretischer Teil.

Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, ist es eine allgemein verbreitete Annahme, dafs der Gallenfarbstoff das in der Leber entstehende physiologische Abbauprodukt des Blutfarbstoffes ist. Die Entdeckung Küsters, dafs aus Blutfarbstoff wie auch aus Bilirubin bei der Oxydation Hämatinsäure gebildet wird, macht es wahrscheinlich, dafs zum Aufbau beider Moleküle Pyrrolderivate verwendet werden. Es entstehen aber folgende Fragen, über welche die Bildung der Hämatinsäure keinen Aufschlufs geben kann. Bestehen überhaupt gröfsere Ähnlichkeiten in der Konstruktion des Blutfarbstoff- und Gallenfarbstoffmoleküls? Ist die Bildung von Gallenfarbstoff durch einfache Veränderung des Blutfarbstoffes zu denken? Oder ist ein tiefgehender Abbau des letzteren und ein Wiederaufbau des Gallenfarbstoffes aus den Bruchstücken anzunehmen?

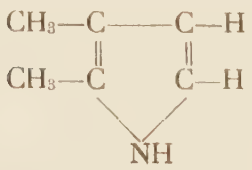
Diese Fragen würden nur dann vom chemischen Standpunkte aus bejahend beantwortet werden können, wenn man aus beiden Farbstoffen dieselben einfachen Bausteine (etwa dieselben Pyrrolcarbonsäuren oder Pyrrole) oder wenn man gar gröfsere Komplexe von der gleichen oder ähnlichen Struktur gewinnen könnte. Sie müssen dagegen verneint werden, wenn solche Bruchstücke Verschiedenheiten im Kohlenstoffgerüst aufweisen würden.

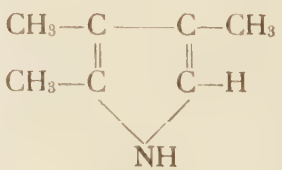
Um diese Fragen im angegebenen Sinne der Lösung näher zu bringen, wurde die im folgenden beschriebene Untersuchung begonnen. Durch Zerlegung des Bilirubins auf verschiedene Art ist so viel experimentelles Material gesammelt worden, dafs man die eine der oben skizzierten Fragen dahin beantworten kann, dafs zwischen dem Bilirubin und dem Blutfarbstoff sehr weitgehende Ana-

logien im Aufbau vorhanden sind. Was die zweite Frage betrifft, so kann man sagen, dafs die Entstehung des Bilirubins in der Leber wahrscheinlich nicht durch direkte Umwandlung des Blutfarbstoffes, sondern wohl durch teilweisen Abbau desselben und Wiederaufbau des neuen Gebildes aus den passend veränderten Bruchstücken des Blutfarbstoffes erfolgt.

Diesen Schlufs zu ziehen ist man berechtigt aus dem Vergleich der Resultate dieser Arbeit mit den früher von Piloty aus dem Hämatoporphyrin gewonnenen Spaltstücken.

Das Hämatoporphyrin liefert bei der Kalischmelze neben einem unaufspaltbaren Teil ein Pyrrolgemisch.[14]) Die genaue Untersuchung dieses Pyrrolgemisches hat Prof. Piloty und Josef Stock gegenwärtig in Arbeit, aber noch nicht ganz abgeschlossen. Jedoch kann hier jetzt schon mitgeteilt werden, dafs dasselbe mindestens vier verschiedene Pyrrolderivate enthält. Das Bilirubin verhält sich bei der Kalischmelze ganz ähnlich, nur sind die Spaltstücke nicht so verschiedenartig und zahlreich wie beim Hämatoporphyrin. Es konnten nur zwei Pyrrolderivate in Form von kristallisierten Salzen isoliert und ihre Eigenschaften mit synthetisch gewonnenem Material verglichen werden. Es sind dies α-, β-Dimethylpyrrol und das α-, β-, β′-Trimethylpyrrol.





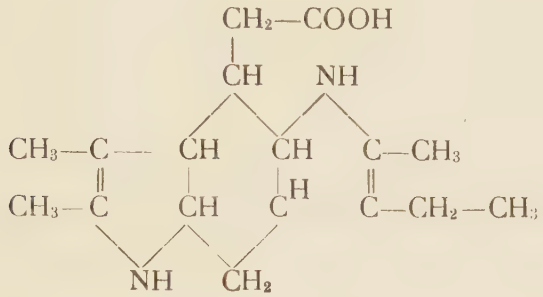
Ebenso wie beim Hämatoporphyrin ist beim Bilirubin anzunehmen, dafs diese abspaltbaren Gruppen an einem festeren Kern angeheftet sind.

Beim Hämatoporphyrin wird dieser festere Kern unter den auf reduktivem Wege gefundenen Spaltstücken durch die Hämatopyrrolidinsäure repräsentiert. Schon früher hat Piloty[15]) gefunden, dafs Hämatopyrrolidinsäure bei der Oxydation Hämatinsäure liefert.

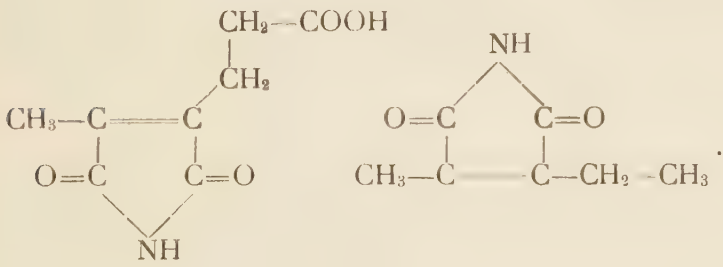
---

14) Ber. d. Chem. Ges. 42, 3258 (1909).
15) Annalen 366, 271.

Neuerdings konnte vom gleichen Autor in Gemeinschaft mit P. Hirsch[16]) gezeigt werden, dafs aus dem hämatopyrrolidinsauren Zink neben Hämatinsäure auch Methyläthylmaleinimid entsteht. Die Autoren nehmen folgendes Konstitutionsbild der Hämatopyrrolidinsäure an



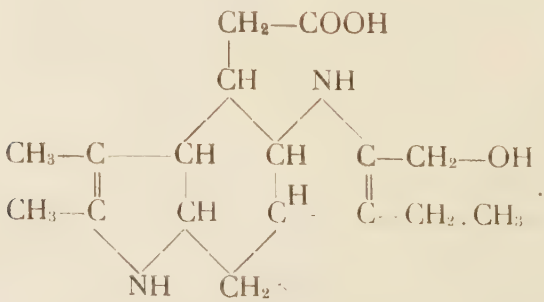
und stützen diese Formel durch den oxydativen Abbau dieser Substanz. Wenn man bedenkt, dafs bei allen Pyrrolen die α-Kohlenstoffatome die besonders begünstigten Angriffspunkte für oxydative Eingriffe sind, so ist es nicht zu verwundern, dafs bei der Oxydation der Hämatopyrrolidinsäure der Sechsring gesprengt und Hämatinsäure bzw. Methyläthylmaleinimid entstehen.



Aus dem Bilirubin konnte ich nun durch Reduktion mit Jodwasserstoffsäure ein der Hämatopyrrolidinsäure entsprechendes Spaltstück isolieren. Dasselbe ist eine farblose, ebenfalls nur schwach

16) Annalen 390, 191, 1912.

sauer reagierende Säure von der Zusammensetzung $C_{17}H_{26}N_2O_3$, wie ich durch Analyse und Molekulargewichtsbestimmung feststellen konnte und der ich den Namen „Bilinsäure“ gebe. Der der Hämatopyrrolidinsäure $C_{17}H_{26}N_2O_2$ ähnlichen Zusammensetzung entsprechen durchaus ähnliche Eigenschaften der Bilinsäure, nur ist sie kristallisiert und wird durch diesen Umstand eine wichtige Stütze der von Piloty schon früher angegebenen Konstitution der Hämatopyrrolidinsäure. Wie diese Substanz wird die Bilinsäure von warmem Wasser unter Bildung einer stark schäumenden Flüssigkeit aufgenommen, ohne beim Erkalten wieder auszukristallisieren, auch läfst sie sich durch Kochsalz oder Ammonsulfat wieder aussalzen. Sie hat die Fähigkeit, Pyrrolderivate absorptionsartig festzuhalten wie ein Kolloid und die Eigenschaft im Gegensatz zu den einfachen Spaltstücken dieser Farbstoffgruppe mit Pikrinsäure oder Metallsalzen amorphe Verbindungen zu bilden. Am wichtigsten aber ist, dafs die Bilinsäure ebenso wie ihr Analogon bei der Kalischmelze Essigsäure und flüchtige Pyrrolverbindungen liefert, unter denen ich aber kein Hämopyrrol entdecken konnte. Ferner liefert die Bilinsäure bei der Oxydation mit Chromsäure ebenso wie die Hämatopyrrolidinsäure nebeneinander Methyläthylmaleinimid und Hämatinsäure. Da das dritte Sauerstoffatom der Bilinsäure offenbar die Ursache ist, weshalb bei der Kalischmelze der Methyläthylmaleinimid liefernde Teil des Moleküls nicht als Hämopyrrol oder Isohämopyrrol gefunden wird, so kann man annehmen, dafs dieses Sauerstoffatom als Hydroxyl an einem α-ständigen Methyl desselben Molekülteils sitzt. Mit den experimentellen Daten würde folgende Strukturformel der Bilinsäure im Einklange sein.

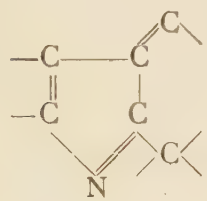


Möglicherweise kann in dieser Formel die Äthylgruppe und die mit × bezeichnete Methylengruppe passend vertauscht werden. Als

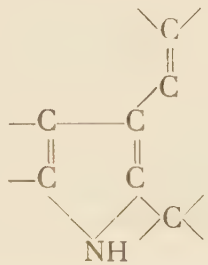
weiteres Argument für die oben aufgestellte Struktur der Bilinsäure kann ich anführen, dafs es gelingt, durch einen gelinden oxydativen Eingriff die farblose Bilinsäure in einen charakteristisch gefärbten Körper zu verwandeln, der durch seine Farbstoffnatur geeignet erscheint in die Beurteilung der farbgebenden Struktur des Moleküls des Bilirubins und seiner Verwandten neue Gesichtspunkte zu bringen.

Durch sehr milde Oxydation mittels einer $n/_{10}$-Kaliumpermanganatlösung geht die farblose Bilinsäure $C_{17}H_{26}N_2O_3$ in eine intensiv gelbe, kristallisierte Säure von der Zusammensetzung $C_{17}H_{22}N_2O_3$ über. Diese Substanz nenne ich Dehydrobilinsäure. Sie ist durch ein Natriumsalz von der Farbe des pikrinsauren Natriums charakterisiert. Der Schmelzpunkt der freien Säure liegt unscharf oberhalb 260°. Der Farbstoffcharakter dieser Substanz ist wahrscheinlich durch ein System konjugierter Doppelbindungen bedingt. Solche Systeme kann man sich aus der oben gegebenen Formel der Bilinsäure leicht konstruieren und so einen Versuch der Erklärung des Übergangs der farblosen in die farbige Säure machen, wie folgende Schemata andeuten mögen:

I.



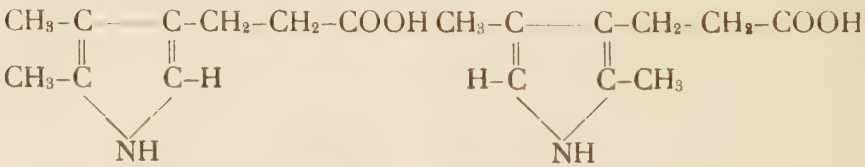
II.



Beim Hämatoporphyrin finden sich unter den Reduktionsprodukten neben der Hämatopyrrolidinsäure als weitere Spaltstücke das Hämopyrrolgemisch, Phonopyrrolcarbonsäure und jedenfalls nach den neuesten Untersuchungen Pilotys[17]) auch Isophonopyrrolcarbonsäure. Das Bilirubin liefert ebenfalls bei der Reduktion neben der Bilinsäure weitere Spaltstücke, nämlich eine Base und eine einfache Säure. Die Base entsteht jedoch in so geringer Menge, dafs ich

17) Ber. Bd. 45, S. 2592 (1912).

sie einer genauen Untersuchung nicht unterziehen konnte. Sie ist jedenfalls das Produkt einer unwesentlichen Nebenreaktion. Die Säure hingegen entsteht in beträchtlicher Menge. Sie ist der Phonopyrrolcarbonsäure isomer und hat die Zusammensetzung $C_9H_{13}NO_2$. Sie liefert mit salpetriger Säure ein charakteristisches Halboxim. Ich nenne die Säure Isophonopyrrolcarbonsäure. Ferner ist diese Säure charakterisiert durch ein kristallisiertes Pikrat vom Schmelzpunkt 146° und durch die gröfsere Löslichkeit des letzteren in Alkohol gegenüber derjenigen des Pikrates der Phonopyrrolcarbonsäure. Der Schmelzpunkt der Säure selbst ist ein wenig höher als derjenige der Phonopyrrolcarbonsäure. Im übrigen sind sich die beiden Säuren aufserordentlich ähnlich und es ist daher erklärlich, dafs die Isophonopyrrolcarbonsäure neben der Phonopyrrolcarbonsäure der Beobachtung entgangen ist. Nach den neuesten Untersuchungen von Piloty[18]) ist es aber als ziemlich sicher anzunehmen, dafs die von mir unter den Spaltungsstücken des Bilirubins aufgefundene Isophonopyrrolcarbonsäure auch unter Bruchstücken des Blutfarbstoffmoleküls vorhanden ist, während die Phonopyrrolcarbonsäure selbst unter den Spaltstücken des Bilirubins nicht aufgefunden werden konnte.

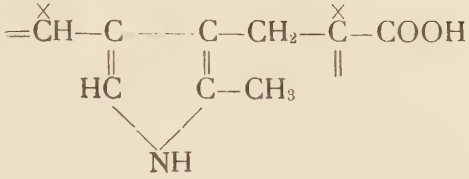


Phonopyrrolcarbonsäure. Isophonopyrrolcarbonsäure.

Über die Rolle, welche die Isophonopyrrolcarbonsäure im Bilirubinmolekül spielt, läfst sich zurzeit etwas Bestimmtes nicht sagen; jedoch kann man es als recht wahrscheinlich bezeichnen, dafs sie die Quelle der bei der Kalischmelze des Bilirubins auftretenden beiden Pyrrole ist. Dies stünde im Einklang mit der modifizierten Parallelität der Erscheinungen bei der Kalischmelze des Hämatoporphyrins und des Bilirubins, auf die weiter oben hingewiesen worden ist. Man könnte sich das so denken, dafs die Isophonopyrrolcarbonsäure an

18) Ber. Bd. 45, S. 2592 (1912).

den mit × bezeichneten beiden Stellen mit unaufspaltbaren Komplexen verbunden ist,



von denen sie durch schmelzendes Ätzkali teils als Dimethyl-, teils als Trimethylpyrrol getrennt wird.

Experimenteller Teil.

Darstellung des Bilirubins.

Das Ausgangsmaterial für die Darstellung des Bilirubins bildeten Rindergallensteine. Zur Verfügung standen im ganzen ca. 1800 g Gallensteine. Diese wurden in Kugelmühlen möglichst staubfein zerrieben und durch einen Satz Drahtsiebe hindurchgetrieben. Das staubfeine Pulver wurde zunächst bis zur Erschöpfung mit Äther in der Wärme extrahiert, was ungefähr 2--3 Tage in Anspruch nimmt. Von der Gründlichkeit dieser Operation hängt viel die gute Qualität, d. h. die Kristallisationsfähigkeit des später extrahierten Bilirubins ab. Bilirubin ist in Äther selbst absolut unlöslich und wird durch denselben auch in keiner Weise verändert. Die Extraktion des Gallensteinpulvers mit Äther sowie alle später folgenden Extraktionen geschehen in 1 -- $1\frac{1}{2}$ Liter Soxlethapparaten. Das Gallensteinpulver selbst wurde in Säckchen von allerfeinstem Leinen mittels Glashaken an den Korkverschlüssen der Extraktionsapparate befestigt. Die Leinensäckchen wurden möglichst hoch gemacht, so dafs sie den Heber des Extraktionsapparates um ein Drittel ihrer Länge überragten. Sie müssen, um Stockungen im Abhebern des Apparates zu vermeiden, frei im Lumen des Soxleth hängen. Ein Umwickeln des Extraktionsapparates mit Watte ist bei den nachfolgenden Chloroformextraktionen zu empfehlen. Das mit Äther erschöpfend extrahierte Pulver wird im Dampfschrank getrocknet. (Beim Trocknen des Gallensteinpulvers ist grofse Vorsicht am Platze, da schon bei verhältnismäfsig niederen Temperaturen das Gallensteinpulver verkohlt, im Gegensatz zum reinen Bilirubin, das hohe Temperaturen

anstandslos verträgt.) Das getrocknete Pulver wird in Emailtöpfen mit destilliertem Wasser einige Minuten gekocht, auf 800 g Pulver 5—7 Liter Wasser. Die Aufschwemmung des Pulvers wird in einem grofsen Stutzen absitzen gelassen. Das Absitzen wird oft durch colloidales Eiweifs erheblich verzögert, auf Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure aber sofort herbeigeführt. Das überstehende Wasser wird abgehebert und das Pulver auf einer grofsen Nutsche abgesaugt. Abermals getrocknet und dann in grofsen Porzellanschalen mit 3½% HCl ganz kurze Zeit auf Siedetemperatur gebracht (6 Liter auf 800 g Pulver). Die Salzsäure darf sich bei dieser Operation nicht erheblich konzentrieren. Das Sieden darf nur ganz kurze Zeit dauern, da sonst das Pulver grünlich wird, was ja bei den späteren Wiederholungen dieser Operation nie ganz vermieden werden kann, aber immer eine Verschlechterung der Ausbeute an gutem Bilirubin bedeutet. Die salzsaure Lösung wird ebenfalls absitzen gelassen, die überstehende Flüssigkeit abgehebert, das Pulver abgenutscht und bis zum völligen Verschwinden der HCl-Reaktion ausgewaschen, was oft einen ganzen Tag erfordert, aber wegen des nachfolgenden Trocknens im Dampfschrank unbedingt nötig ist. Das Pulver wird auf Ton gestrichen und im Dampftrockenschrank getrocknet. Hierauf ist das Gallensteinpulver zur Extraktion mit Chloroform bereit. Es wird in der oben geschilderten Art in den Soxlethapparaten befestigt und die Chloroformextraktion bis zur Erschöpfung, d. h. bis das Chloroform beim Ablaufen aus dem Heber kaum mehr gefärbt erscheint, fortgeführt. Dies nimmt bei der ersten Chloroformextraktion etwa sechs Tage, bei der wiederholten Operation kürzere Zeit in Anspruch. Im Chloroformkolben kristallisiert das Bilirubin schon bereits am ersten Extraktionstage in goldgelben Kristallen. Ich habe den Apparat fast nie vor beendigter Extraktion auseinander genommen, würde man aber auf besonders schön ausgebildete Kristalle Wert legen, so müfste man die Chloroformlösung des ersten Extraktionstages filtrieren. Das extrahierte Bilirubin wird auf der Nutsche mit Chloroform, dann mit Äther gründlich nachgewaschen. Der Turnus Wasser 3½% HCl wird beliebig oft wiederholt. Es läfst sich immer wieder neues Bilirubin, wenn auch in geringer Menge aus den Rückständen, die allmählich sich grünlich färben, gewinnen. Ich habe mein Gallensteinpulver fünfmal extrahiert, d. h. diesem Turnus unterworfen und immer ist das Bilirubin noch nicht ganz erschöpft. Die Ausbeute an gutem Bilirubin ist 35—50%. Es hängt dies sehr von der Qualität der Gallensteine ab. Die dunkelgefärbten Chloroformmutterlaugen

enthalten noch einen Farbstoff, der durch Alkohol und Äther fällbar ist. Dieser Farbstoff löst sich teilweise in Alkohol mit tief chlorophyllgrüner Farbe und läfst sich aus alkoholischer Lösung wieder durch Äther fällen. Diesen Farbstoff kristallisiert zu erhalten, ist mir nicht gelungen. Es handelt sich jedenfalls um ein uneinheitliches Oxydationsprodukt, das durch die oxydierende Wirkung der Luft bei der Behandlung des Gallensteinpulvers mit verd. HCl und bei der Chloroformextraktion entstanden ist. Die Menge dieses grünen Farbstoffes ist ca. 10 g bei 800 g verarbeiteten Steinen. — Diese von mir angewandte Methode ist in den wesentlichen Gesichtspunkten bereits von Städeler angegeben, weicht aber doch in einzelnen Punkten von der Städelerschen Originalmethode ab, weshalb ich es für zweckdienlich hielt, dieselbe hier detailliert zu beschreiben. Die Methode der Bilirubindarstellung von Küster ist aufserordentlich umständlich, gibt nach den Angaben Küsters schlechtere Ausbeuten an Bilirubin als die von mir erzielten und scheint auch hinsichtlich der Qualität des extrahierten Bilirubins mit der alten Städelerschen Methode nicht konkurrenzfähiger zu sein. Die Analyse des auf diese Weise gewonnenen Bilirubins stimmt mit den bisher veröffentlichten überein.

0,1372 angew. Substanz gaben 0,3386 CO_2 und 0,0863 H_2O.
0,1350 „ „ „ 18 ccm Stickgas bei 19° und 703 mm Druck.

Für $C_{16}H_{18}N_2O_3$:

	Ber.	Gef.:
C	67,09	67,32
H	6,34	7,03
N	9,79	9,72

Kalischmelze des Bilirubins.

Die Kalischmelze wurde in einer ca. 500 ccm fassenden kupfernen Retorte mit doppelt tubuliertem Helm ausgeführt. Ein Versuch, die Ausbeute während der Schmelze durch Rühren zu steigern, führte nicht zu einer Verbesserung. Zunächst wurden 20 g Bilirubin in 200 g unter Zusatz von 10 ccm Wasser geschmolzen und auf 200° erhitztes Ätzkali sorgfältig in kleinen Portionen eingerieben. Die Mischung mufs ganz homogen sein und das Bilirubin sich vollständig mit dem ge-

schmolzenen Kali benetzt haben. Dann erst wird der Helm aufgesetzt und die Temperatur allmählich bis schliefslich auf 370° getrieben. Bei etwa 290° beginnt die Destillation eines farblosen oder schwach gelben Öles und den Höhepunkt erreicht die Reaktion bei 310 bis 315°. Um das Übergehen des Öles zu befördern, wurde während der ganzen Operation aus einem Tropftrichter Wasser in einem solchen Tempo in die Schmelze getropft, dafs die Temperatur der Schmelze nur ganz allmählich stieg. Das durch den Kühler abfliefsende Öl wurde in einer mit Äther beschickten Vorlage unter Kohlensäure aufgefangen, der ganze Vorlageinhalt mit Wasserdampf abgeblasen und das ganze Dampfdestillat mit Ammonsulfat gesättigt und sechsmal ausgeäthert. Die farblose ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet, die Hauptmenge Äther auf dem Dampfbad, der Rest im Vakuum abgedunstet. Das hinterbleibende Öl wurde bei etwa 11 mm abdestilliert und ging zwischen 56° und 80° vollständig über. Es wurde in kleinen zuschmelzbaren Röhren gesammelt und unter Kohlensäure aufbewahrt. Aus 240 g Bilirubin wurden zusammen 16,3 g Öl gesammelt.

Das Pyrrolgemisch wurde zunächst im Vakuum fraktioniert:

Teil I vom Siedepunkt 59—64° bei 11 mm = 8,3 g;

Teil II „ „ 64—80° ebenfalls bei 11 mm = 6,7 g.

Beide Teile wurden alsdann mit feuchtätherischer Pikrinsäurelösung fraktioniert gefällt.

Teil I. Das Öl wurde in einen Erlenmayerkolben gebracht und das Fläschchen mit 30 ccm Äther in den Kolben ausgespült; hiezu wurden 30 ccm feuchtätherische Pikrinsäurelösung (= 3 g Pikrinsäure = $^1/_6$ der berechneten Menge) gefügt und eine halbe Stunde unter Kohlensäure im Eis stehen gelassen, ohne etwa durch Kratzen mit dem Glasstab die Kristallisation zu beschleunigen.

Diese erste Fraktion besteht aus 2,2 g eines hellgelb gefärbten Pikrates, welches zwar reichliche Mengen Trimethylpyrrolsalz enthält, aber auch beträchtliche Mengen einer Verunreinigung, die sich beim Umkristallisieren als eine in rubinroten Nadeln kristallisierende Substanz zu erkennen gab. Es gelang nicht, diese Substanz, welche nur in ganz geringem Mafse neben dem Trimethylpyrrol vorhanden war, auf chemischem Wege zu trennen. Einige mechanisch herausgelöste rote Kristalle gaben einen ganz unscharfen Schmelzpunkt oberhalb 180°. Diese ganze erste Fraktion wurde verworfen.

In der Mutterlauge derselben wurden 150 ccm Pikrinsäurelösung (15 g Pikrinsäure = „ der berechneten Gesamtmenge) hinzugefügt und etwa sechs Stunden unter Kohlensäure in Eis stehen gelassen unter gleichzeitiger Anregung zur Kristallisation. Es fielen 3,4 g eines Pikrates vom Schmelzpunkt 124°, der nach einmaligem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol auf 147—148° stieg und bei weiterem Umkristallisieren sich nicht änderte. Die ätherischen Lösungen wurden sofort durch Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge, Trocknen und Eindampfen der ätherischen Lösung auf Pyrrol verarbeitet und so 1,9 g Pyrrol vom Siedepunkt 53—63° bei 11 mm zurückgewonnen.

Teil II. (Siedep. 64—80° bei 11 mm): Das Pyrrolgemisch wurde mit 60 ccm Pikrinsäurelösung (6 g Pikrinsäure = der Hälfte der berechneten Menge) versetzt. Es fielen sofort 2 g eines Pikrates aus, das nach einmaligem Umkristallisieren den Schmelzp. 140° zeigte und behielt. Zu der Mutterlauge wurden nun noch weitere 30 ccm Pikrinsäurelösung (3 g Pikrinsäure) hinzugefügt und etwa sechs bis sieben Stunden unter Kohlensäure in Eis stehen gelassen. Es fielen 2,5 g Pikrat aus, welches nach einmaligem Umkristallisieren den Schmelzpunkt 148° besafs und behielt. Die ätherischen Mutterlaugen wurden ebenfalls auf Pyrrol verarbeitet und 2 g Pyrrole (Siedepunkt 64—80° bei 11 mm Druck) zurückgewonnen. Die Pikrate vom Schmelzp. 148° wurden vereinigt und enthielten ein Derivat des α-, β-Dimethylpyrrols, das Pikrat vom Schmelzp. 140° ist dasjenige des α,β,β′-Trimethylpyrrols.

Von den aus Teil I und II zurückgewonnenen Pyrrolgemischen konnten weitere Pikratfällungen nicht erzielt werden, ihre Analysen ergaben in beiden Fällen Zahlen, die zwischen Di- und Trimethylpyrrolen liegen.

Öl I (kein Pikrat liefernd, Siedep. 53—63°):

0,1314 gaben 0,3672 CO_2 und 0,1135 H_2O.

0,1373 „ 18 ccm Stickgas bei 17° und 725 mm Druck.

Für C_6H_9N (Dimethylpyrrol):

	Ber.	Gef.:
C	75,79	76,24
H	9,47	9,66
N	14,74	13,90

Öl II (kein Pikrat liefernd, Siedep. 64—80° bei 11 mm Druck):

0,2518 gaben 0,7189 CO_2 und 0,2235 H_2O.

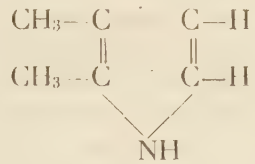
0,1843 „ 20 ccm Stickgas bei 19° und 724 mm Druck.

Für $C_7H_{11}N$ (Trimethylpyrrol):

Ber.	Gef.:
C 77,06	77,77
H 10,09	9,92
N 12,84	12,06

Diese Analysen zeigen deutlich, dafs es sich um ein uneinheitliches Ölgemisch handelt, bei dem jedenfalls die beiden in Frage kommenden Pyrrole in einem solchen Verhältnis vorhanden sind, dafs sich ihre Trennung durch Salzbildung mit Pikrinsäure nicht bewerkstelligen läfst.

α,β-Dimethylpyrrol.



Das Pikrat vom Schmelzpunkt 148° ist kein normales Pyrrolsalz, sondern enthält nur ein Mol. Säure auf zwei Mol. Base. Die dem Gemisch zugrundeliegende Base ist ein fester Körper und wie die Molekulargewichtsbestimmung und Analyse ergab, ein Polymeres des α,β-Dimethylpyrrols, ein bis-α-β-Dimethylpyrrol. Die Pikrinsäure hat demnach dem einfachen Pyrrolderivat gegenüber polymerisierende Wirkung. Genau so verhält sich das auf synthetischem Wege gewonnene α,β-Dimethylpyrrol, jedoch ist diese Eigenschaft der Polymerisation des Dimethylpyrrols zuerst bei dem aus Bilirubin gewonnenen gemacht worden und bestätigte das synthetische Material auf das willkommenste diese Erscheinung.

Die Mischschmelzpunkte beider Präparate ergeben Identität derselben.

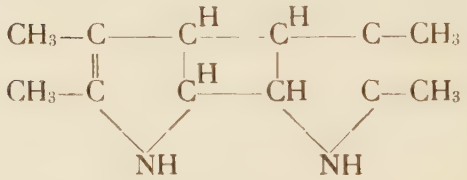
I. 0,1126 g gaben 0,2132 CO_2 und 0,0538 H_2O.
0,1156 g „ 18 ccm Stickgas bei 19° und 703 mm Druck.

II. 0,1078 g „ 0,2057 CO_2 und 0,0498 H_2O.

Für $C_{18}H_{21}N_5O_7$:

Ber.:	Gef.: I.	II.
C 51,55	51,65	52,04
H 5,01	5,34	5,16
N 16,71	16,83	—

Darstellung der freien Base.



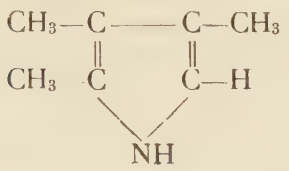
Das Pikrat wurde in Äther suspendiert und die Suspension mit verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen und Abdunsten des Äthers hinterbleibt eine farblose, feste, in Würfeln kristallisierende Substanz, die vollständig luftbeständig ist, aber beim Erhitzen in verdünnter Salzsäure den Fichtenspan rotviolett färbt. Nach dem Umkristallisieren aus Petroläther schmilzt die Substanz bei 84—85°. Sie ist leicht löslich in Äther, Benzol, Alkohol, Eisessig, heifsem Petroläther und Wasser.

0,1254 g gaben 0,3476 CO_2 und 0,1079 H_2O.
0,1134 g „ 15,20 ccm Stickgas bei 20° und 721 mm Druck.
0,2384 g „ in 14,365 Benzol 0,3495 Schmelzp.-Depr.

Für $C_{12}H_{18}N_2$:

Ber.	Gef.:
C 75,79	75,61
H 9,47	9,62
N 14,74	14,81
M 190	234

α,β,β′-Trimethylpyrrol.



Das Pikrat aus Teil II vom Schmelzpunkt 140° wurde wegen Mangels an Material nicht in die freie Base verwandelt, sondern nur analysiert und als Salz mit dem Pikrat des auf synthetischem Wege erhaltenen α,β,β′-Trimethylpyrrols, dessen Beschreibung von Piloty und Hirsch später erfolgen wird, verglichen. Mischschmelzpunkt der beiden Präparate 140°.

0,1196 g gaben 0,2030 CO_2 und 0,0461 H_2O.
0,1171 g „ 17,8 ccm Stickgas bei 20° und 705 mm Druck.

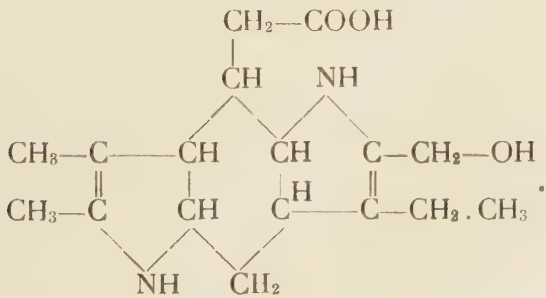
$C_{13}H_{11}N_4O_7$:

	Ber.	Gef.:
C	46,16	46,28
H	4,15	4,31
N	16,57	16,66

Das Pikrat löst sich leicht in heifsem Alkohol und kann daraus umkristallisiert werden.

Reduktion des Bilirubins mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium.

Biliusäure.



Je 25 g Bilirubin wurden in 450 g Jodwasserstoffsäure auf dem kochenden Wasserbad etwa zwei Stunden unter öfterem Umschütteln

erhitzt und dann mit 15 g Jodphosphonium in kleinen Portionen versetzt, wodurch Aufhellung bis zur Honiggelbfärbung erzielt wurde. Diese Lösung wurde mit einem Liter Wasser verdünnt und unter ständigem Rühren mit trockener fester Soda deutlich alkalisch gemacht. Mit Wasserdampf wird aus der charakteristisch riechenden Flüssigkeit nur eine sehr geringe Menge einer flüchtigen Base, die deshalb nicht weiter untersucht werden konnte, (S. P. des Pikrates dieser Base 120° ?) abgetrieben. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure schwach sauer gemacht, wobei man die Abscheidung einer braun gefärbten öligen Masse wahrnahm. Die Flüssigkeit samt allem Ausgeschiedenen wurde sieben- bis achtmal ausgeäthert und die ätherischen Extrakte mehrerer Portionen vereinigt. Die ätherische Lösung ist in der Regel hellbraun gefärbt, wird getrocknet und hinterläfst nach dem Verjagen des Äthers einen dunkelbraunen, dünnen Sirup, der ziemlich stark nach Essigsäure riecht. Derselbe wurde mit Eis gekühlt und allmählich mit Wasser auf das drei- bis vierfache Volum gebracht. Es fiel ein hellgelber teigiger Körper aus, der bei anhaltender Kühlung und Waschen mit Wasser allmählich vollständig hart wurde und von dem möglichst rasch und vollständig teils durch Abgiefsen, teils durch Filtration die Mutterlauge getrennt wurde. Aus dieser fällt dann beim weiteren Abkühlen und beim energischen Reiben mit dem Glasstab die Bilinsäure als fast weifser und reiner, in büschelförmig vereinigten Nadeln kristallisierender Körper aus. Nach dreiviertelstündigem Stehen im Eis ist die Kristallisation beendet.

Die Ausbeute aus 50 g Bilirubin beträgt 3,5 g; der anfangs sirupöse ausfallende Teil, der unreine Bilinsäure darstellt, beträgt nach dem Festwerden und Trocknen über Phosphorpentaoxyd 11 g. Aus letzterem läfst sich durch Umkristallisieren aus Essigäther noch weitere reine Säure gewinnen.

Für die Analyse wurde die Substanz in der Art dreimal aus Essigäther umkristallisiert, dafs dieselbe in einer reichlichen Menge Essigäther möglichst rasch aufgelöst und die filtrierte Lösung ebenfalls rasch auf ein kleines Volumen gebracht und von einem hierbei ausfallenden flockigen Niederschlag abermals filtriert wurde. So behandelt, kristallisiert die Substanz beim Abkühlen der Lösung allmählich in durchsichtigen farblosen Schuppen, die beim Aufbewahren eine schwach grünliche Färbung annehmen und den Schmelzpunkt 187° scharf und ohne Zersetzung zeigen.

I. 0,1280 g gaben 0,3147 CO_2 und 0,0978 H_2O.
II. 0,1431 g „ 0,3452 CO_2 „ 0,1049 H_2O.

I. 0,1614 g „ 13,20 ccm Stickgas bei 21° und 720 mm Druck.
II. 0,1310 g „ 10,70 „ „ „ 19° „ 723 „ „

Für $C_{17}H_{20}N_2O_3$:

Ber.:	Gef.: I.	II.
C 66,66	66,69	66,63
H 8,49	8,53	8,30
N 9,15	8,99	9,20

Die Substanz gibt keine Pyrrolreaktion mit dem Fichtenspan in salzsaurer Lösung und keine Rotfärbung mit p-Dimethylamidobenzaldehyd; sie ist sehr leicht löslich in Alkohol, Eisessig, Chloroform, Aceton, weniger leicht in heifsem Essigäther und Wasser und fast ganz unlöslich in Äther, Benzol, Petroläther usw.; sie löst sich in Soda unter Kohlensäureentwicklung. Bei der Darstellung wird die Substanz offenbar nur durch die gleichzeitig anwesende Essigsäure in den Äther übergeführt. Die wäfsrige Lösung schäumt stark beim Schütteln aus derselben und wird durch Natriumchlorid die Substanz in farblosen Flocken ausgesalzen und die Lösung reagiert schwach sauer. Erwärmt man die Substanz mit wäfsriger Pikrinsäurelösung, so fällt beim Erkalten ein amorphes Pikrat aus. Die durch Natronlauge neutralisierte Lösung gibt mit Kupfersulfat eine amorphe Fällung, welche nach dem Trocknen ein hellgraugrünes Pulver darstellt.

Titration der Bilinsäure.

In wäfsrig alkoholischer Lösung mit Phenolphtaleïn als Indicator verbrauchen 0,0310 g Substanz 1 ccm n_{10}-Kalilauge. Das entspricht bei Annahme eines Carbonyls dem Mol.-Gewicht 306.

Molekulargewichtsbestimmung der Bilinsäure.

I. 0,4953 g gaben in 25,24 Eisessig 0,132° Sdp.-Erhöhung.
II. 0,4311 g „ „ 16,21 „ 0,210° „

Berechnetes Molekulargewicht = 306; Gef. I = 347, II = 299.

Kalischmelze der Bilinsäure.

Bei der Kalischmelze, ausgeführt wie die oben beschriebene Bilirubinkalischmelze, entstanden 1,7 g eines flüchtigen Pyrrolgemisches, das bei 11 mm Druck zwischen 59 und 80° überging und aus dem kein kristallisierendes Pikrat zu erhalten war. Hämopyrrol entsteht also sicherlich bei der Schmelze keines, denn dieses Pyrrol läfst sich aus Pyrrolgemischen durch Salzbildung mit Pikrinsäure sofort isolieren.

Oxydation der Bilinsäure mit Chromsäure.

4 g Säure wurden in verdünnter Schwefelsäure in der Wärme gelöst und zu der etwa 50–60° warmen Lösung 8 g Chromsäure in wäfsriger Lösung allmählich hinzugefügt. Die Farbe der Lösung schlägt bei den letzten Portionen in reines Grün um. Die saure Lösung wurde achtmal mit Äther extrahiert und die durch etwas überschüssige Chromsäure gelbgefärbte ätherische Lösung mit einer verdünnten Lösung von schwefliger Säure entfärbt. Nach dem Trocknen und Eindampfen des Äthers hinterblieb ein schwach gelb gefärbter Sirup. Derselbe wurde mit Wasser aufgenommen und die stark sauer reagierende Lösung mit Natronlauge genau neutralisiert und abermals mit Äther erschöpft. Der Äther nimmt das Methyläthylmaleinimid auf. Nach dem Ansäuern der Mutterlauge mit verdünnter Schwefelsäure wird der Lösung durch Äther die Hämatinsäure entzogen. Beide ätherische Lösungen hinterlassen nach dem Trocknen und Abdunsten des Äthers farblose Sirupe, wovon der eine beim Impfen mit Methyläthylmaleinimid-, der andere beim Impfen mit Hämatinsäurekristallen sofort kristallinisch erstarrt.

Das so erhaltene Methyläthylmaleinimid zeigt nach dem Umkristallisieren aus Wasser den richtigen Schmelzpunkt 68°.

0,1294 g gaben 11,9 ccm Stickgas bei 17° und 710 mm Druck.

Für $C_7H_9NO_2$:

	Ber.	Gef.:
N	10,07	10,12

Die Hämatinsäure zeigte nach einmaligem Umkristallisieren aus Essigäther-Petroläther ebenfalls den richtigen Schmelzpunkt 112°.

0,1225 g gaben 8,6 ccm Stickgas bei 17° und 710 mm Druck.

Für $C_8H_9NO_4$:

	Ber.	Gef.:
N	7,65	7,72

Die beiden Oxydationsprodukte entstehen in etwa äquivalenten Mengen und in guter Ausbeute.

Oxydation der Bilinsäure mit $NaNO_2$.

3 g Säure wurden in ungefähr 25 ccm verdünnter Schwefelsäure gelöst. In die erwärmte Lösung solange Natriumnitritlösung zugetropft, bis eine vollständige Aufhellung der Lösung eingetreten ist. Hierauf wurde achtmal mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung hinwiederum mehreremale mit wenig Natriumkarbonatlösung gewaschen. In der ätherischen Lösung hinterbleibt nach dem Trocknen und Eindampfen eine kristallisierte Säure in einem hellgelben Sirup. Schmelzpunkt nach dem Umkristallisieren aus Essigäther-Petroläther 108° (Hämatinsäure 112°).

Aus der wieder angesäuerten und ausgeätherten Natriumkarbonatlösung konnte eine Substanz gewonnen werden, die nach dem Umkristallisieren aus Wasser den S. P. 66° zeigt. Beide Substanzen entstehen in schlechter Ausbeute. Wider Erwarten entstanden also nicht die Oxime der Spaltstücke, sondern Methyläthylmaleinimid vom Schmelzpunkt 66° und Hämatinsäure vom Schmelzpunkt 108°.

Versuche, die Hydroxylgruppe der Bilinsäure durch Methylieren oder Benzoylieren nachzuweisen, führten zu keinem Resultat. Ebensowenig konnte mit Phenylisocyanat ein kristallisiertes Urethan erhalten werden.

Oxydation der Bilinsäure zu Dehydrobilinsäure.

1,5 g Bilinsäure wurden in der berechneten Menge $n/_{10}$-Natronlauge (50 ccm) gelöst und indem man durch Kühlung mit Eis die Temperatur auf unter $+7°$ hielt, mit 200 ccm $n/_{10}$-Kaliumpermanganatlösung tropfenweise versetzt. Es trat momentan Reduktion der Permanganatlösung ein und nach kurzem Stehen fiel der vorher kolloidal gelöste Braunstein vollständig aus. Die hellbraune Lösung wurde davon abfiltriert und durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure die neue Säure in Freiheit gesetzt. Nach kurzem Stehen im Eis-

schranl fiel sie gemengt mit amorphen Flocken als gelbbrauner Niederschlag aus, der nach dem Filtrieren und Trocknen aus sehr wenig absolutem Alkohol umkristallisiert wurde. Am besten geschieht das Umkristallisieren in der Weise, dafs man etwa 0,6 g Rohprodukt in 10 ccm Alkohol löst und den Alkohol bis auf 2 ccm wegdampft. Die Dehydrobilinsäure erscheint so als zitronengelbe, schlanke, abgeschrägte Prismen, welche Neigung zur Zwillingsbildung haben. Ausbeute an reiner Substanz 0,3 g. Sie zersetzt sich ohne zu schmelzen über 260°, ist in Wasser, Benzol, Petroläther unlöslich, ziemlich leicht löslich in heifsem absolutem Alkohol und Eisessig. Sie gibt keine Pyrrolreaktion mit dem Fichtenspan und reagiert nicht mit Dimethylamidobenzaldehyd. Gegen Lakmuspapier ist sie, wohl wegen ihrer Schwerlöslichkeit in Wasser, neutral. Sie löst sich leicht unter intensiver Gelbfärbung in Alkalien und kohlensauren Alkalien ohne Kohlensäureentwicklung.

0,1237 g Substanz gaben 0,3048 g CO_2 und 0,0855 H_2O.
0,1076 g „ „ 9,1 ccm Stickgas bei 19° und 718 mm Druck.

Für $C_{17}H_{22}N_2O_3$:

	Ber.	Gef.:
C	67,55	67,20
H	7,28	7,73
N	9,27	9,33

Molekulargewichtsbestimmung.

0, 3131 Subst. in 18,11 g Eisessig 0,130° Sdp.-Erhöhung.
Ber. Molek.-Gew.: 302. Gef.: 309.

Aus der ursprünglichen Mutterlauge konnten an kristallisierten Produkten nur geringe Menge von Bilinsäure (S. P. 180°) isoliert werden.

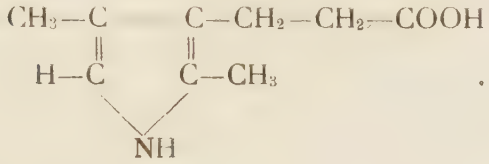
Natriumsalz: Sehr charakteristisch ist das Verhalten der Dehydrobilinsäure gegenüber verdünnter Natronlauge und Sodalösung. In beiden Flüssigkeiten löst sie sich in der Wärme leicht auf. Beim Erkalten aber scheidet sich die Natriumverbindung als pikratgelber, kristallinischer Niederschlag wieder aus. Nach dem Filtrieren und Trocknen kann das Salz aus 70prozentigem Alkohol umkristallisiert werden. Es fällt beim Erkalten in konzentrisch gruppierten, schlanken gelben Nadeln aus.

0,1366 g Subst. gaben 0,0290 g Na_2SO_4.

Ber.	Gef.:
Na 6,88	Na 7,07

Als experimentell interessantes Ergebnis erscheint das Auffinden der Dehydrobilinsäure auch insofern, als daraus wahrscheinlich hervorgeht, dafs im Bilirubin ein Komplex enthalten ist, der einer gelinden Oxydation mit Permanganat widersteht, freilich ist die Bilinsäure durch Reduktion aus Bilirubin entstanden und kann durch einen hernach folgenden Oxydationsprozefs nicht mit absoluter Sicherheit darauf geschlossen werden, dafs auch das ursprüngliche Molekül diesem Eingriff standgehalten hätte.

Isophonopyrrolcarbonsäure.



Die wäfsrige Mutterlauge, welche nach dem Auskristallisieren der Bilinsäure (s. Darstellung) bleibt, und sämtliche Waschwässer wurden vereinigt. Diese Lösungen enthalten die Isophonopyrrolcarbonsäure. Der Flüssigkeit wurde die Säure durch achtmaliges Ausäthern entzogen, der Äther nach dem Trocknen verdunstet und der hinterbleibende Rückstand bei Verarbeitung von Portionen von 50 g Bilirubin mit etwa 6 g Pikrinsäure in feuchtätherischer Lösung versetzt und in der Kältemischung der Kristallisation überlassen. Das Pikrat fällt als feines hellgelbes Kristallmehl aus und hat sofort den Schmelzpunkt 145°, der nach einmaligem Umkristallisieren auf 146° steigt und dort bleibt. Aus der Analyse ergibt sich, dafs das Salz das Derivat einer der Phonopyrrolcarbonsäure isomeren Säure ist.

I. 0,1541 g gaben 0,2589 CO_2 und 0,0623 H_2O.

II. 0,1525 g „ 0,2548 CO_2 „ 0,0599 H_2O.
0,1218 g „ 15,60 ccm Stickgas bei 18° und 715 mm Druck.

Für $C_{15}H_{16}N_4O_9$:

Ber.:	Gef.: I.	II.
C 45,45	45,65	45,56
H 4,04	4,52	4,39
N 14,14	14,13	—

Das Pikrat läfst sich leicht aus absolutem Alkohol umkristallisieren und erscheint aus diesem Lösungsmittel in kurzen scharfbegrenzten derben Prismen von rhombischem Habitus. Im ganzen konnte ich 8 g dieses Salzes sammeln.

Darstellung der freien Säure.

8 g des Pikrates wurden in einer Reibschale mit der berechneten Menge Natronlauge angerieben und der Brei mehreremale mit Äther durchgeknetet.

Nachdem der Äther abgegossen war, wurde der Rückstand mit Wasser in ein Kölbchen gespült und gelinde erwärmt, bis eben alles in Lösung gegangen war und endlich unter einer Ätherschicht im Eis das Natriumpikrat vollständig auskristallisieren gelassen. Die vom Natriumpikrat scharf angesogene Flüssigkeit wurde fünf- bis sechsmal ausgeäthert und die ätherischen Lösungen sämtliche vereinigt. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Äthers hinterbleibt eine sofort kristallinisch erstarrende Masse. Dieselbe wird zweckmäfsig mit trockenem Äther aufgenommen und mit Petroläther versetzt, solange noch braune Flocken ausfallen. So erhält man eine farblose Lösung, aus der beim Abdunsten im Vakuum die Säure als nahezu farblose feine Nädelchen hinterbleibt. Aus Wasser kristallisiert die Säure in prächtigen, farblosen prismatischen Nadeln mit zugeschärften Enden. Schmelzp. 126—127°, indem schon bei 105° Sinterung beginnt.

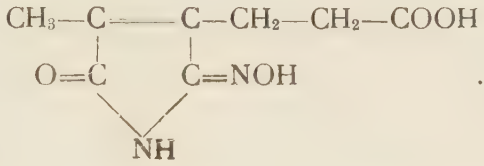
0,1365 g gaben 0,3247 CO_2 und 0,0984 H_2O.
0,1154 g „ 8,8 ccm Stickgas bei 16° und 718 mm Druck.

Für $C_9H_{13}NO_5$:

Ber.	Gef.:
C 64,58	64,86
H 7,78	8,06
N 8,38	8,50

Die Substanz löst sich in Äther, Alkohol usw. leicht, in kaltem Wasser mäfsig leicht, schwer in Petroläther und gibt in salzsaurer Lösung starke Fichtenspanreaktion. Das aus der reinen Säure wiederhergestellte Pikrat hatte den Schmelzpunkt 146°. Leider ging durch Zurücksteigen des Leitungswassers in den Exsikkator ein grofser Teil meines Vorrates an Säure verloren, so dafs die folgenden Versuche nur mit sehr wenig Substanz ausgeführt werden konnten.

Halboxim der Hämatinsäure: Die Isophenolpyrrolcarbonsäure wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst und bei etwa 50° so lange konzentrierte Natriumnitritlösung zugetropft, bis die anfänglich auftretende Dunkelfärbung sich wieder aufhellte. Nach dem Erkalten wurde sechsmal ausgeäthert, die getrocknete ätherische Lösung eingedampft und der hinterbleibende Kristallbrei aus heifsem Wasser mit Zuhilfenahme von Tierkohle umkristallisiert — spindelförmige Blättchen vom Zersetzungspunkt 210° unter vorheriger Sinterung (Zersetzungsp. des aus Phonopyrrolcarbonsäure gewonnenen Oxims 246°). Die Substanz ist bei weitem leichter in Wasser löslich als das aus Phonopyrrolcarbonsäure gewonnene Halboxim. Aus Isophonopyrrolcarbonsäure entsteht das Halboxim in sehr guter Ausbeute. Die Substanz hat folgende Konstitutionsformel:



0,1542 g gaben 19,60 ccm Stickgas bei 18° und 710 mm Druck.

Für $C_8H_{10}N_2O_4$:

	Ber.	Gef.:
N	14,14	13,93

Das Oxim wurde eine Stunde mit verdünnter Schwefelsäure am Rückflufskühler gekocht. Die Lösung reduzierte alsdann Fehlingsche Lösung und durch Ausäthern wurde ein Sirup erhalten, der beim Impfen mit Hämatinsäurekristallen sofort kristallinisch erstarrte. Die Kristalle zeigen nach zweimaligem Umkristallisieren den Schmelzpunkt 109° (statt 112°). Sie bestanden demnach unzweifelhaft aus Hämatinsäure, deren charakteristischen Geruch sie auch besafsen.

Dadurch ist die oben angegebene Konstitution der Isophonopyrrolcarbonsäure festgelegt. Die Isomerie besteht also in der α- bzw. α′-Stellung der zweiten Methylgruppe.

Schlufswort.

Gefunden wurden in der vorstehenden Arbeit das α,β,-Dimethylpyrrol, das α,β,β′-Trimethylpyrrol bei der Kalischmelze, die Bilinsäure $C_{17}H_{26}N_2O_3$ und die Isophonopyrrolcarbonsäure $C_9H_{13}NO_2$ bei der Reduktion des Bilirubins. Nehmen wir an, dafs die bei der Kalischmelze entstehenden Pyrrole aus dem Teil des Moleküls stammen, der bei Reduktion die Isophonopyrrolcarbonsäure gibt, so haben wir mit dem C_{17} und N_2 der Bilinsäure und den C_9 und N der Isophonopyrrolcarbonsäure über C_{26} und N_3 des Bilirubinmoleküls Auskunft. Das Bilirubin hat aber $C_{32}H_{36}N_4O_4$. Es fehlen also noch C_6 und N, mithin jedenfalls noch ein Pyrrolring, dessen Entdeckung die Aufgabe der weiteren Bilirubinuntersuchung sein wird.

Lebenslauf.

Unterzeichneter wurde am 28. Juni 1885 als Sohn des Fabrikanten Josef Thannhauser (wohnhaft zu München) in München geboren. Ich besuchte daselbst die Volksschule und vom Herbst des Jahres 1895 bis Sommer 1904 das Kgl. Luitpold-Gymnasium. Im Herbst 1904 wurde ich an der Kgl. Universität München in der medizinischen Fakultät immatrikuliert und bestand an der gleichen Universität das medizinische Staatsexamen und die Doktorprüfung 1909. Während meiner medizinischen Studienzeit verbrachte ich ein Semester in Genf und zwei Semester in Kiel. In Kiel legte ich auch im Sommer 1908 das chemische Verbandsexamen in anorganischer Chemie ab. Seit meinem medizinischen Staatsexamen war ich in der philosophischen Fakultät (Sektion II) an der Kgl. Universität in München immatrikuliert und arbeitete teils in der organischen Abteilung bei Herrn Professor Dimroth, teils in der analytischen Abteilung des Herrn Professor Piloty, woselbst die vorstehende Arbeit gefertigt wurde.

Dr. med. S. J. Thannhauser.